

吉田衣里 論文内容の要旨

主 論 文

Enhancement of antibacterial effect of quaternary ammonium with inorganic nanosheets against *Enterobacter cloacae*

第4級アンモニウムと無機ナノシートを用いた
エンテロバクター・クロアカに対する抗菌効果の増強

著者： 吉田衣里、Murray Lawn、永安 武、鎌田 海
雑誌： Journal of Nanoparticle Research (2018) 20:199

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：永安 武 教授)

緒 言

院内感染症の発生・重篤化はしばしば問題となっており、対処法の模索や新規薬剤の開発が精力的に行われている。薬剤開発の多くは従来からよく知られる有機物質の改質やポリマーの使用が多く、有機物と細菌の化学反応により殺菌効果を有する。しかし細菌はこれに対抗するため遺伝子改変して薬剤耐性を獲得することがあり、既存の薬剤が効かなくなるという課題も生じている。

そこで本研究では細菌の薬剤耐性化を招きにくいと考えられる無機材料を用いて、既存の消毒・殺菌剤と複合することにより、その抗菌効果を検証した。

対象と方法

本論文ではエンテロバクター・クロアカ菌を対象とし、院内品や家庭用品に広く用いられる消毒・殺菌剤である第4級アンモニウム(テトラアルキルアンモニウム、 R_4N)と無機材料であるチタン酸ナノシート(TNS)を複合した際の抗菌効果の違いについて検討した。TNSは試薬の加水分解反応によって研究室で容易に合成が可能であり、一般的な球状微粒子でなくシート形状微粒子を合成することで、後の抗菌コーティング応用性も視野に入れた。

R_4N の抗菌性評価

- ・ 抗菌効果は濁度法(溶液の濁り具合から細菌の増殖度を測る)にて評価した。

- ・異なるアルキル鎖長を有する R₄N を用いて、R₄N 濃度およびアルキル鎖長がもたらす抗菌性について調査した。
- ・培養時間は 0-9 時間とし、一部サンプルは培養 72 時間後も目視にて濁り具合を確認した。

R₄N-TNS 複合体の抗菌性評価

- ・抗菌効果はコロニーカウント法（寒天培地上に細菌培養溶液を塗抹して細菌のコロニーを形成し、そのコロニー数から溶液中の菌数を比較する）で評価した。
- ・TNS との複合化の意義を調査するため、R₄N の濃度を一定にし、R₄N 単独と複合体の抗菌効果を比較した。培養時間は 5, 10, 22 時間とした。

結 果

細菌の培養時間に伴う濁度測定の結果から、既知の殺菌剤である R₄N は構造として有するアルキル鎖長が長い程、抗菌・殺菌作用が強くなることを確認した。そこで、もっとも鎖長の短いメチル基を有するテトラメチルアンモニウム (TMA)、および殺菌作用を持つブチル基を有するテトラブチルアンモニウム (TBA) の 2 種の R₄N に、無機材料である TNS をそれぞれ複合した (TMA-TNS および TBA-TNS)。

複合 TNS は厚さ 1 nm 以下、シート幅 10 nm 以下のシート様微粒子として合成された。TNS 複合体の溶液は透明で微粒子は水溶液中によく分散し、長期保管後も変色・沈殿などは見られなかった。

コロニーカウント法による抗菌検討の結果、TNS との複合材料は R₄N それ自身よりもより高い抗菌作用を示した。抗菌力の異なる 2 種の R₄N (TMA および TBA) を用いて検討した結果から、TNS 複合体は R₄N 自身の抗菌力に左右されず、培養 5 時間後で既にコントロール群に対して統計有意差のある細菌増殖抑制を示すことがわかった。

考 察

TNS 複合体が R₄N より高い抗菌作用を示したことから、TNS 自身が抗菌作用を有することが示唆された。TNS の抗菌メカニズムを調査するため、比較として球状酸化チタン微粒子を R₄N と混合して同様に抗菌検討を行ったところ、TNS 複合体のような抗菌作用の増強は見られなかった。従って TNS の抗菌作用はシート様という特殊な形状に由来すると考えられる。他グループの論文において、鋭利な構造を持つ材料は細菌細胞膜を物理的に破壊すると報告されている。我々の TNS もそのシート様形状によりエッジを有する。従って、そのエッジが細菌の細胞膜を攻撃することにより抗菌・殺菌作用を示したと考えられる。

今後は、抗菌コーティング剤として本溶液を応用することを考えている。本ナノシート溶液は、スプレー塗抹などにより容易に均一で透明なコーティング膜を形成できる。そこで、院内施設や医療デバイスなどの必要と思われる場所にこれを塗膜することで、簡単に抗菌・殺菌作用を付与できると期待される。